



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

مقاله پژوهشی

## بررسی وضعیت آفاتوکسین در چای سیاه خارجی شهر تهران

لیلا فرامرزی<sup>۱</sup>، مهدی داوری<sup>۱\*</sup>، روح اله کرمی اسبو<sup>۲</sup>

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران  
۲- آزمایشگاه تحقیقات میکوتوکسین‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله:

**زمینه و هدف:** آفاتوکسین‌ها یکی از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که در مواد غذایی و خوراک دام توسط برخی گونه‌های قارچ *Aspergillus* تولید می‌شوند. چای به عنوان یک نوشیدنی سالم، روزانه توسط دو سوم جمعیت جهان مصرف می‌شود. این پژوهش با هدف پایش آفاتوکسین‌ها در شهر تهران و بررسی ایمنی و سلامت غذایی پرمصرف‌ترین نوشیدنی کشور انجام شد. **روش بررسی:** در این پژوهش، ۳۱ نمونه چای از نشان‌های تجاری مختلف در شهر تهران در اردیبهشت ماه ۱۴۰۲ جمع‌آوری و از نظر آلودگی به آفاتوکسین‌ها، با استفاده از روش نانو استخراج و با کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مجهز به آشکارساز فلورسانس مورد بررسی قرار گرفتند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۰۱  
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۳  
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۱/۲۷  
تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۶/۲۵

**یافته‌ها:** مقادیر حد تشخیص (LOD) برای آفاتوکسین  $G_1$ ،  $G_2$ ،  $B_1$ ،  $B_2$  به ترتیب برابر ۰/۰۶، ۰/۳۵، ۰/۰۶ و ۰/۳۵ و مقادیر حد تعیین (LOQ) برابر ۰/۲، ۱، ۰/۲ و ۱ به دست آمد. LOQ روش حاضر مشابه مطالعات اخیر در اسپانیا، اتریش و ایران است که مقادیر آن بالاتر از ۱ ng/g است. طبق نتایج به دست آمده، هیچ یک از نمونه‌های چای بررسی شده از نشان‌های تجاری چای سیاه موجود در بازار تهران، به هیچ‌کدام از ۴ نوع آفاتوکسین مورد بررسی ( $G_1$ ،  $B_1$ ،  $B_2$  و  $G_2$ ) حتی در محدوده مجاز آن در دنیا ( $AFs \geq 10 \mu g/kg$ ) نیز آلوده نبودند.

**واژگان کلیدی:** میکوتوکسین، آفاتوکسین، چای سیاه، HPLC

**نتیجه‌گیری:** با وجود عدم مشاهده آلودگی چای مصرفی به آفاتوکسین‌ها در شهر تهران، مطابق مطالعات قبلی در دنیا احتمال آلودگی چای به قارچ‌ها و تولید میکوتوکسین در شرایط مناسب دمایی و رطوبتی وجود دارد و بنابراین سلامت چای مستلزم توجه به کیفیت فرآوری، نگهداری مناسب و جلوگیری از رشد قارچ‌های تولیدکننده آفاتوکسین در مراحل تولید است.

پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

mdavari@uma.ac.ir

Please cite this article as: Faramarzi L, Davari M, Karami Osboo R. Investigation of aflatoxin status in foreign black tea in Tehran, Iran. Iranian Journal of Health and Environment. 2025;18(2):283-96.



## مقدمه

چای یکی از مهم‌ترین نوشیدنی‌های غیرالکلی جهان است که به عنوان یک نوشیدنی سالم، روز به روز محبوبیتش در حال فزونی است و روزانه توسط دو سوم جمعیت جهان، به عنوان نوشیدنی در وعده صبح مصرف می‌شود (۱). در گذشته، چای به عنوان یک دارو و نوشیدنی شفابخش و نیز به عنوان یک نوشیدنی ممتاز در مناسبت‌های سلطنتی و مذهبی استفاده می‌شد که این نشان از اهمیت چای در میان گذشتگان دارد. چین، هند، کنیا، سریلانکا و ترکیه بزرگترین تولیدکننده چای در جهان هستند. چین و هند به ترتیب حدود ۴۳ و ۲۲ درصد از تولید چای جهان را تشکیل می‌دهند. سطح زیر کشت چای در ایران ۳۲۰۰۰ ha است که در استان‌های گیلان و مازندران به صورت پراکنده قرار گرفته است (۲).

چای دارای خواص درمانی زیادی است که از جمله آن می‌توان به خواص آنتی‌اکسیدانی برای پیشگیری، تسکین علائم و تسریع بهبود سرماخوردگی و آنفلوآنزا، کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، ضد عفونی‌کننده دهان و پیشگیری از بوی بد آن، پیشگیری و کاهش اثرات دیابت نوع دوم، کاهش علائم مواد حساسیت‌زا، کاهش علائم عارضه پارکینسون، رفع خستگی و استرس، پیشگیری و التیام درد بیماری آرتروز، پیشگیری از پوکی استخوان، کندکننده روند پیری و جلوگیری از لخته شدن خون و رسوب چربی در رگ‌های خونی اشاره کرد (۳).

مایکوتوکسین‌ها یا سموم قارچی ترکیبات ثانویه متابولیکی هستند که توسط قارچ‌ها تولید شده و دارای خواص سمی می‌باشند. نام مایکوتوکسین از "mykes" یک کلمه یونانی به معنی قارچ و کلمه لاتین "toxicum" به معنای سم گرفته شده است. زمانی که قارچ‌ها دچار یکی از تنش‌های دمایی یا رطوبتی می‌شوند، برای دفاع از خود موادی بنام سموم قارچی (مایکوتوکسین) ترشح می‌کنند که بر روی مواد خوراکی باقی می‌مانند (۴، ۵). بسیاری از قارچ‌هایی که قادر به تولید مایکوتوکسین هستند، مواد غذایی و فرآورده‌های کشاورزی را نیز

آلوده می‌کنند. آلودگی مایکوتوکسین ممکن است در هر مرحله از زنجیره غذایی رخ دهد. تاکنون بیش از صد مایکوتوکسین کشف شده است. براساس اظهار نظر FAO، سالانه ۲۵ درصد غذاهای دنیا به مایکوتوکسین‌ها آلوده می‌شوند (۶، ۷).

مایکوتوکسین‌ها در طبیعت توسط گروه‌هایی از قارچ‌ها نظیر جنس‌های *Penicillium*، *Aspergillus*، *Fusarium*، *Claviceps* و *Alternaria* تولید می‌شوند و به راحتی در محصولات کشاورزی جای گرفته و باعث آلودگی آن‌ها در زمین و یا پس از برداشت می‌شوند (۸، ۹).

آفاتوکسین‌ها مایکوتوکسین‌هایی هستند که توسط برخی گونه‌های آسپرژیلوس از جمله *A. parasiticus* و *A. flavus* تولید می‌شوند و برای انسان و حیوانات خطرناک هستند (۴). آفاتوکسین‌ها معمولاً خوراک و مواد غذایی را در طول ذخیره‌سازی محصول آلوده می‌کنند و تهدیدی برای سلامت انسان، ایمنی غذا و اقتصاد هستند. AFB<sub>1</sub> (Aflatoxin B<sub>1</sub>) یکی از قوی‌ترین مواد سرطان‌زای طبیعی و جهش‌زا است. قوانین بیش از ۷۵ کشور، حد مجاز AFB<sub>1</sub> را در محصولات غذایی در محدوده غلظت ۱-۲۰ μg/kg و آفاتوکسین کل (Total Aflatoxin) را حداکثر ۳۵ μg/kg تعیین کرده‌اند (۱۰، ۱۱).

تاکنون ۱۸ نوع آفاتوکسین شناخته شده است که اهمیت شش نوع آن شامل B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub>، M<sub>1</sub> و M<sub>2</sub> (۲، ۳) به ویژه نوع M<sub>1</sub> و B<sub>1</sub> در صنایع غذایی و سلامت انسان بیش از بقیه آن‌هاست (۵). در مطالعات انجام شده در دنیا، آفاتوکسین‌ها، اکراتوکسین A و فومونیزین‌ها در نمونه‌های چای سیاه یافت شدند (۱۲). آفاتوکسین‌ها (B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub>) ترانوژن، جهش‌زا، هپاتوکسین و ایمونوتوکسین قوی در نظر گرفته می‌شوند (۱۳). آفاتوکسین‌ها (B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub>) به عنوان قوی‌ترین و شایع‌ترین سموم قارچی شناخته شده در مواد غذایی‌اند که مطالعات عمده‌ای را در اکثر کشورها به خود جلب کرده‌اند. بر این اساس، آفاتوکسین B<sub>1</sub> توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (International Agency for Research on Cancer (IARC))

فلورسانس به دلیل انتخاب‌پذیری و حساسیت، برای آنالیز مایکوتوکسین‌ها ترجیح داده می‌شود (۲۳). یکی از مزیت‌های کروماتوگرافی نسبت به سایر روش‌ها این است که در عرض چند دقیقه یا چند ساعت انجام می‌گیرد و نیاز به صرف زمان زیادی برای آنالیز ندارد (۲۴).

سال‌های اخیر در دنیا مطالعاتی پیرامون وجود آفلاتوکسین در محصولاتی مانند ادویه‌جات، آجیل و قهوه انجام شده است. با این حال، مطالعات در مورد وجود آفلاتوکسین در چای سیاه محدود است. Sedova و همکاران (۲۰۱۸)، آلودگی به ۲۱ مایکوتوکسین را در ۲۶ نمونه چای سیاه و چهار نمونه چای سبز بررسی کردند که تنها دو نمونه چای سیاه آلوده بودند و نمونه‌های چای سبز کم‌ترین آلودگی را داشتند (۲۵). Zhou و همکاران (۲۰۲۲)، سطوح آلودگی ۱۶ مایکوتوکسین را در نمونه‌های چای چینی بررسی کردند. میانگین غلظت تقریباً همه مایکوتوکسین‌ها، به جز اکراتوکسین A در نمونه‌های چای سیاه کمتر از مقررات تعیین شده بود (۲۶). Zhao و همکاران (۲۰۲۲)، در مطالعه دیگری وجود آفلاتوکسین B<sub>1</sub> را در چای مورد بررسی قرار دادند و در هیچ‌کدام از ۱۲۶ نمونه مورد مطالعه، AFB<sub>1</sub> شناسایی نشد (۲۷). Takim و همکاران (۲۰۲۱)، آلودگی آفلاتوکسین چای سیاه محلی و وارداتی در ترکیه را مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج حاصل از این پژوهش، آفلاتوکسین کل و آفلاتوکسین B<sub>1</sub> در هیچ یک از نمونه‌های مورد بررسی شناسایی نشد (۲۸). Mukherjee و همکاران (۲۰۱۸)، میزان آفلاتوکسین چای سیاه موجود در بازار داخلی هند را مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده، ۸۰ نمونه پودر چای سیاه از ۸۲ نمونه آنالیز شده، فاقد آفلاتوکسین بودند (۲۹).

اخیراً مطالعاتی در رابطه با آلودگی چای به مایکوتوکسین‌ها انجام شده است. Pakshir و همکاران (۲۰۲۰)، آلودگی قارچی و آفلاتوکسین کل و اکراتوکسین A (OTA) را در نمونه‌های چای مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۴۰ درصد نمونه‌ها به آفلاتوکسین کل آلوده بودند و آلودگی هیچ یک از

به عنوان گروه اول (ترکیبات سرطان‌زا برای انسان) طبقه‌بندی شده است (۱۴-۱۶). حد سمی برای کل آفلاتوکسین ارائه شده توسط سازمان جهانی بهداشت (World Health Organization (WHO)) بالای ۳۰ ppb است (۱۷). تشخیص سطوح آفلاتوکسین در محصولات غذایی برای تعیین حد سمی و ارزش غذایی آن‌ها بسیار مهم است (۱۸). از جمله محصولات غذایی که روزانه توسط درصد زیادی از مردم جهان مصرف می‌شود چای است، از این رو آفلاتوکسین در چای یک نگرانی جدی در سراسر جهان است که تجارت بین‌المللی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. غلظت قابل قبول این سم در این محصول از ۵ µg/kg برای AFB<sub>1</sub> تا ۱۰ µg/kg برای AF کل متغیر است (۱۹). برای سنجش و اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین‌ها می‌توان به روش‌های کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography (TLC))، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) و روش‌های ایمنولوژیک اشاره نمود.

HPLC یکی از دقیق‌ترین تکنیک‌ها برای شناخت و تعیین مقدار و جدا کردن موادی مانند فلاونوئیدها، تریپن‌ها، پیگمان‌های گیاهی، استروئیدها، گلیکوزیدها، آلکالوئیدها، آنتی‌بیوتیک‌ها و مایکوتوکسین‌ها (مانند آفلاتوکسین‌ها) به‌شمار می‌رود. این تکنیک پژوهشگر را قادر می‌سازد تا مقدار کمی و کیفی بسیاری از اجسام غیر پایدار یا حساس را به طور مستقیم تعیین نماید. این روش نسبت به TLC و GC از حساسیت بیشتری برخوردار است (۲۰-۲۲).

اکثر مایکوتوکسین‌ها ترکیبات قطبی نسبتاً کوچکی هستند و می‌توان آن‌ها را با فاز معکوس HPLC با استفاده از فاز متحرک ساخته شده از ترکیب آب، استونیتریل یا متانول جدا کرد. فاز یا ستون ثابت این تکنیک، حاوی ذرات سیلیس با اندازه کوچک (۵ µm یا کمتر) است که این ذرات با یک لایه آبگریز که عمدتاً C<sub>18</sub> است، تغییر پیدا کرده‌اند. آشکارساز

Sigma-Aldrich (آلمان) خریداری شد. تمام حلال‌های استفاده شده دارای درجه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و تمام معرف‌ها دارای درجه آنالیز بودند که از Merck (دارمشتات، آلمان) خریداری شدند. استانداردهای آفاتوکسین‌ها ( $AFB_1$ ,  $AFB_2$ ,  $AFG_1$  و  $AFG_2$ ) از Sigma-Aldrich (سنت لوئیس، MO، ایالات متحده آمریکا) خریداری شدند. محلول استاندارد هر AF ( $10000 \text{ ng/mL}$ ) در متانول (MeOH) با درجه HPLC و با اندازه‌گیری جذب مربوطه آن در  $365 \text{ nm}$  توسط طیف‌سنج UV (پرکین-لمر، ایالات متحده آمریکا) تهیه شد (۱۱). سپس محلول ذخیره مخلوط AF ( $G_1$  و  $B_1$ )،  $1000 \text{ ng/mL}$ ؛  $G_2$  و  $B_2$ ) در  $200 \text{ ng/mL}$  در MeOH تهیه شد و در ویال‌های شیشه‌ای کهربایی در دمای  $20^\circ\text{C}$ - ذخیره شد. این محلول ذخیره برای آزمایش‌های بازیابی استفاده شد و به صورت سریالی رقیق شد تا استانداردهای کالیبراسیون کاری مخلوط برای آنالیز HPLC تهیه شود. ستون‌های ایمنی برای AFs (aflatest<sup>®</sup>) از Vicam (میلفورد) به دست آمد.

محلول استاندارد مادر هر یک از آفاتوکسین‌ها با غلظت  $1 \mu\text{g}/\mu\text{L}$  در متانول تهیه و با اندازه‌گیری اسپکترومتری در طول موج  $365 \text{ nm}$  با روش AOAC استاندارد سال ۱۹۹۰ به طور کمی تعیین غلظت شد و این محلول در دمای  $20^\circ\text{C}$ - نگهداری شد. سپس محلولی از مخلوط استاندارد آفاتوکسین‌ها با غلظتی برابر  $1000 \text{ ng/mL}$  به عنوان استاندارد ذخیره ساخته شد و برای اندازه‌گیری بازیافت استفاده شد (۳۲). منحنی استاندارد با تزریق محلول‌های استاندارد در محدوده  $0/4$  تا  $7/2 \text{ ng/mL}$  برای آفاتوکسین‌های  $G_1$  و  $B_1$  و در محدوده  $0/8$  تا  $1/2 \text{ ng/mL}$  رسم گردید.

#### شرایط کروماتوگرافی

اندازه‌گیری کمی با کروماتوگرافی مایع فاز معکوس (Reverse phase chromatography (RPC)) و مشتق‌سازی بعد از ستون با برم (۲۲) به روش الکتروشیمیایی

نمونه‌های چای بالاتر از حد مجاز ( $10 \text{ AFs } \mu\text{g}/\text{kg}$ ) نبود (۳۰). مطالعات Pouretedal و همکار نشان داد که  $27/5$  درصد نمونه‌های مورد بررسی، آلوده به آفاتوکسین بودند. میانگین محتوای آفاتوکسین  $B_1$ ،  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  و میانگین کل آفاتوکسین  $12/07 \text{ ng}/\text{kg}$  برای نمونه‌های آلوده بود (۱۲). در مطالعات Mohammadi Sani و همکاران، همه  $42$  نمونه مورد بررسی، حاوی سطوح آفاتوکسین کل در محدوده  $1/5$  تا  $16/5 \text{ ng}/\text{kg}$  بودند. میانگین غلظت آفاتوکسین کل در نمونه‌های داخلی و وارداتی کمتر از استانداردهای ملی و اتحادیه اروپا ( $10 \text{ ng}/\text{kg}$ ) بود (۳۱). به دلیل عدم وجود روش معتبر و عدم دریافت بازیافت مناسب با روش‌های ذکر شده در مطالعات پیشین در ایران، پژوهش حاضر با روشی کارآمد و با دقت بالا به بررسی آفاتوکسین در پرمصرف‌ترین نشان‌های تجاری چای خارجی شهر تهران پرداخته است.

#### مواد و روش‌ها

##### جمع‌آوری نمونه

در بهار ۱۴۰۲، ۳۱ نمونه چای سیاه خارجی با بسته‌بندی ۱۰۰ گرمی از ۱۳ نشان تجاری معروف و پرمصرف میان مردم از فروشگاه‌های مختلف شهر تهران، به صورت تصادفی و منطبق با استاندارد ملی ۱۲۰۰۴ با عنوان "مواد غذایی و فرآورده‌های کشاورزی- روش نمونه برداری برای کنترل رسمی سطوح مایکوتوکسین‌ها" جمع‌آوری و به آزمایشگاه تحقیقات مایکوتوکسین‌های مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور منتقل شدند.

##### آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌ها با آسیاب (Romer Series II (Romer Labs, Union, MO) Inc., آسیاب شده و سپس تا زمان آزمایش در فریزر با دمای  $20^\circ\text{C}$ - نگهداری شدند.

##### مواد شیمیایی و معرف‌ها

نانوذرات مغناطیسی اکسید آهن (II، III) از

## ارقام شایستگی روش (Figure of merit)

منحنی استاندارد با تزریق محلول‌های استاندارد در محدوده ۰/۴ تا ۷/۲ ng/mL برای آفلاتوکسین‌های B<sub>1</sub> و G<sub>1</sub> و در محدوده ۰/۰۸ تا ۱/۲ ng/mL رسم گردید. حد تشخیص (Limit of detection (LOD)) در مطالعه حاضر با استفاده از روش ارائه شده توسط Yan و همکاران (۲۰۱۰) محاسبه شد. حداقل غلظتی از آنالیت که بتواند تولید سیگنال به اندازه سه برابر محلول شاهد بنماید را حد تشخیص می‌گویند (۳۴). حد اندازه‌گیری کمی (Limit of quantification) در مطالعه حاضر با استفاده از روش ارائه شده توسط Yan و همکاران محاسبه شد. حداقل غلظتی از آنالیت که بتواند تولید سیگنال به اندازه ۱۰ برابر محلول شاهد بنماید، حد اندازه‌گیری کمی نام دارد (۳۴). انحراف استاندارد نسبی از طریق استخراج سه نمونه چای غیر آلوده که در دو سطح مختلف به آفلاتوکسین‌ها آلوده شده بودند، با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(xi-x)^2}{n-1}} \quad RSD = \frac{s}{x} \quad (1)$$

## اندازه‌گیری ارقام شایستگی

منحنی استاندارد

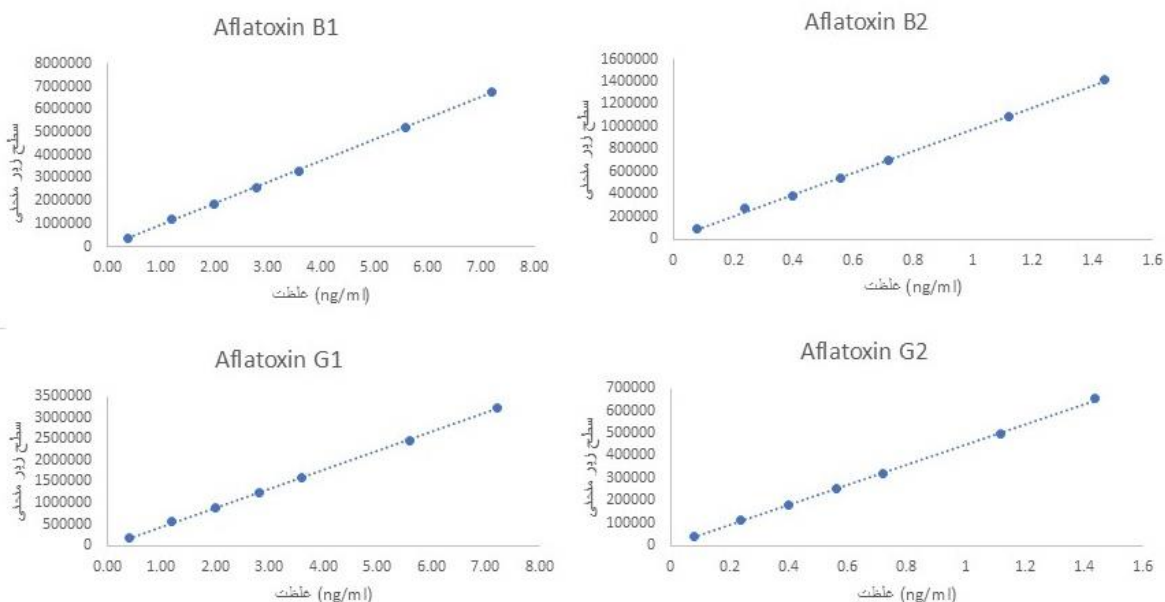
منحنی استاندارد آفلاتوکسین‌ها با استفاده از محلول‌های استاندارد به دست آمد. شکل ۱ منحنی استاندارد برای آفلاتوکسین‌ها را نشان می‌دهد.

و کبری سل (Kobra cell) انجام شد، آشکارسازی با آشکارگر فلورسنت طول موج‌های تابش و بازتاب (exition, emission) ۳۶۰ و ۴۵۰ nm انجام شد. در هر روز آزمایش ابتدا منحنی کالیبراسیون با استفاده از استانداردهای آفلاتوکسین تهیه شده ترسیم و ضریب همبستگی با رسم منحنی مربوطه محاسبه و با استفاده از میزان سطح زیر منحنی برای هر نمونه، غلظت آفلاتوکسین موجود در نمونه‌ها محاسبه شد.

یک فاز معکوس (Waters Nova-pak® C-18, 3.9×250 mm, 4 μm particle size) جهت جداسازی در دمای ۴۰°C مورد استفاده قرار گرفت. مطابق روش ارائه شده توسط استاندارد ملی ایران به شماره ۶۸۷۲ از سیستم شویس تک‌توانی (Isocratic) حلال آب: متانول: استونیتریل (۶۰:۲۰:۲۰) به عنوان فاز متحرک استفاده شد. در طول مدت زمان آزمایش، سرعت جریان به میزان ۱ mL/min ثابت نگهداشته شد (۱۰).

## روش استخراج

مقدار ۲ mL از عصاره با ۲ mL آب رقیق شد و سپس ۲ mL هگزان به مخلوط اضافه گردید و توسط میکسر ورتکس به مدت ۳ min مخلوط شده و به مدت ۵ min سانتریفیوژ شد. ۵۰ mg از نانوذرات و ۵۰۰ μL کلروفرم به ۱ mL از فاز تحتانی افزوده شد، مخلوط به مدت ۳ min ورتکس و سپس به مدت ۳ min سانتریفیوژ شد. پس از فرایند استخراج، نانوذره با استفاده از یک آهنربای قوی از محلول جدا شد. در ادامه، فاز کلروفرم که آفلاتوکسین‌های هدف را دربرداشت، به دقت به داخل یک ویال منتقل و در دمای ۴۰°C فاز مایع تبخیر شد. باقیمانده حاصل از تبخیر در ۱ mL از فاز متحرک حل شد و سپس ۱۰۰ μL از آن به سیستم HPLC متصل به یک نمونه‌بر خودکار (Waters 717)، پمپ HPLC دوتایی (Waters 1525) و یک آشکارساز فلورسانس چند (Waters 2475) λ برای تجزیه و تحلیل و تعیین مقدار آفلاتوکسین‌ها تزریق شد (۳۳).

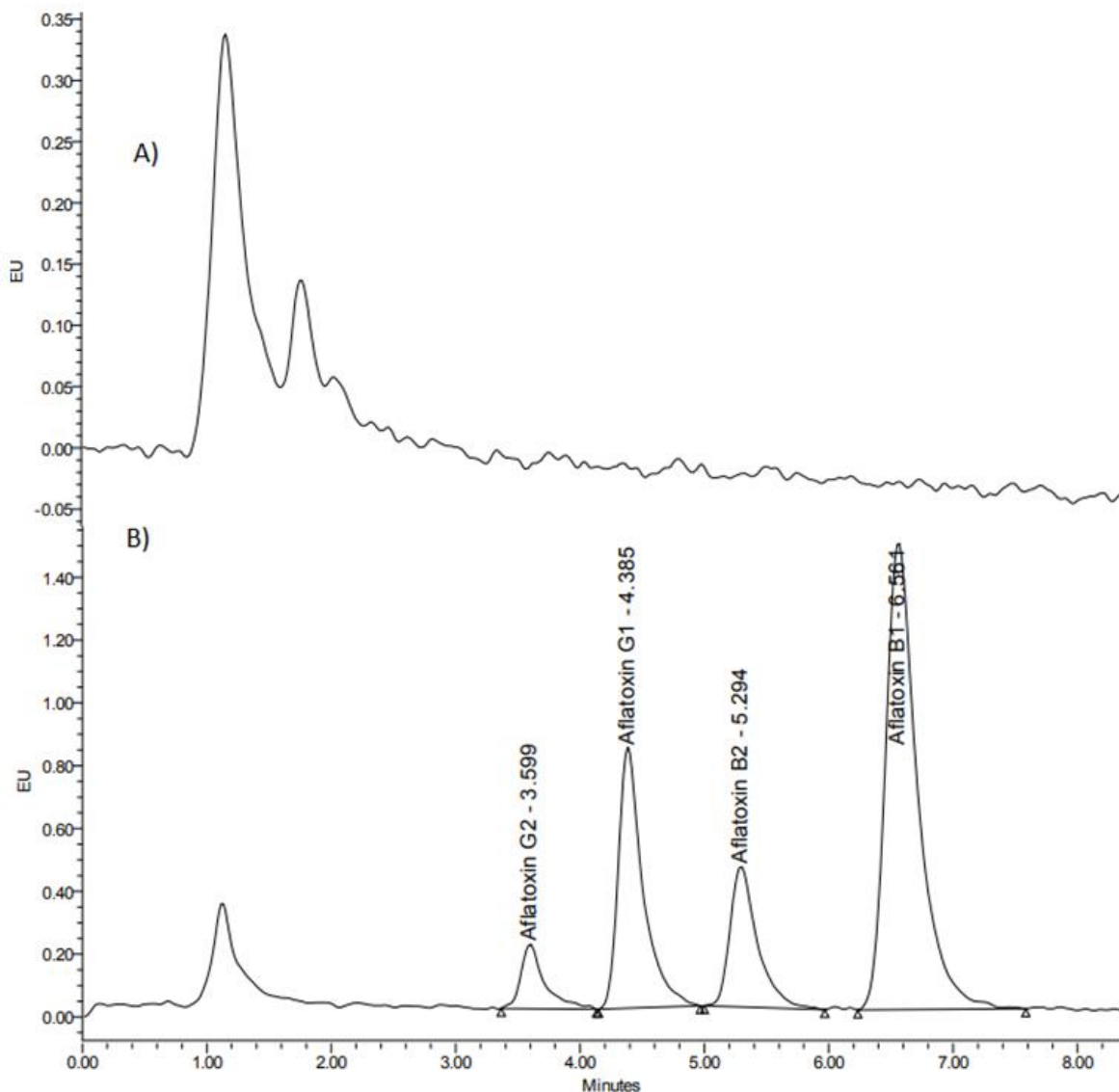


شکل ۱- منحنی های استاندارد آفاتوکسین های گروه های B و G

آن بالاتر از ۱ ng/g است (۳۵). کروماتوگرام های حاصل از آنالیز دستگاه HPLC نشان داد که نمونه های مورد بررسی که از پرمصرف ترین نشان های تجاری مورد استفاده توسط مردم ایران بودند، به هیچ کدام از چهار نوع آفاتوکسین مورد بررسی ( $B_1, B_2, G_1, G_2$ ) در مقادیر بالاتر از حد مجاز آن در دنیا ( $AFs \leq 10 \mu g/kg$ ) آلوده نبودند (شکل ۲) (۳۰). این مطالعه نشان داد چای سیاه در ایران از نظر آلودگی به آفاتوکسین، نوشیدنی امن است.

### یافته ها

در مطالعه حاضر، نشان های تجاری محبوب بازار ایران و ۳۱ نمونه چای مصرفی از فروشگاه های مختلف نمونه برداری و از نظر آلودگی به آفاتوکسین ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقادیر حد تشخیص LOD برای آفاتوکسین  $G_1, G_2, B_1, B_2$  به ترتیب برابر ۰/۰۶، ۰/۳۵، ۰/۰۶ و ۰/۳۵ و مقادیر حد تعیین LOQ برابر ۰/۲، ۱، ۰/۲ و ۱ به دست آمد. LOQ روش حاضر مشابه مطالعات اخیر در اسپانیا، اتریش و ایران است که مقادیر



شکل ۲- کروماتوگرام (A): کروماتوگرام نمونه واقعی جمع آوری شده از سطح شهر و (B): کروماتوگرام نمونه آلوده شده چای در سطح ۵ ng/g

## بحث

و دولت مردان قرار گرفته است. هر ساله گزارشات زیادی از آلودگی مواد خوراکی به آلاینده‌هایی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، آفت‌کش‌ها و مایکوتوکسین‌ها منتشر می‌شود و همواره به

امروزه بحث امنیت و سلامت غذایی با توجه به نیاز بشر به حجم بالای محصولات غذایی، مورد توجه عده کثیری از محققان

چای سیاه بازارهای محلی منطقه مسقط عمان را مورد بررسی قرار دادند. پنج گونه قارچی آسپرژیلوس به عنوان غالبترین گونه در همه نشان‌های تجاری با درصد آلودگی بین ۰/۶۶ تا ۳۰/۳۴ درصد به دست آمد. اگر فرآوری در شرایط بهداشتی‌تری انجام شود، آلودگی پس از برداشت چای را می‌توان از بین برد یا کاهش داد (۴۱). نتایج به دست آمده در مطالعات به وضوح نشان می‌دهد که بیش از نیمی از آفلاتوکسین‌های موجود در برگ‌های چای در آب حل می‌شوند و به بخشی از نوشیدنی تبدیل می‌شوند و درصد کمی از آفلاتوکسین‌ها در برگ‌های چای باقی می‌ماند. دلیل این امر مشخص نیست، اما نتایج نشان می‌دهد که بخش زیادی از آفلاتوکسین‌ها به نوشیدنی نهایی انتقال پیدا می‌کنند، بنابراین فرآیند دم کردن چای در کاهش آفلاتوکسین تاثیرگذار نیست (۳۸). ذخیره‌سازی چای در شرایط بهینه و نگهداری مناسب از هرگونه عواقب منفی جلوگیری می‌کند (۴۰). به دلیل ساختار غیر پروتئینی این سموم، آن‌ها اغلب در برابر گرما مقاوم هستند و ممکن است علیرغم فرآیند پخت و پز، سلامت افرادی را که چنین غذاهای آلوده‌ای را مصرف می‌کنند به خطر بیندازند (۴۲).

### نتیجه‌گیری

چای به عنوان یکی از محبوب‌ترین نوشیدنی‌ها در جهان، از جایگاه خاصی در فرهنگ و تمدن ایران برخوردار است. آفلاتوکسین‌ها در چای مانند سایر محصولات کشاورزی می‌توانند در صورت عدم کنترل مناسب، بر سلامتی انسان تأثیر بگذارند، از این‌رو این مطالعه با هدف بررسی آلودگی چای به آفلاتوکسین‌ها انجام شده است. طبق نتایج به دست آمده از این مطالعه، نمونه‌های مورد بررسی از نشان‌های تجاری چای سیاه موجود در بازار ایران هیچ‌کدام آلوده به آفلاتوکسین نبودند، اما طبق نتایج به دست آمده از پژوهش‌های انجام شده در دنیا، احتمال آلودگی چای به قارچ‌ها و تولید میکوتوکسین در شرایط مناسب وجود دارد. بنابراین برای جلوگیری از آلودگی احتمالی چای باید به روش‌های فرآوری و تهیه چای توجه کافی

این نتیجه رسیده‌اند که پایش ارزاق عمومی به دلیل مصرف روزانه مردم بسیار حیاتی بوده و حائز اهمیت فراوانی است (۳۶). نتایج مطالعه محققان در زمینه آلودگی چای ثابت نموده است که در صورت ایجاد شرایط مناسب برای رشد قارچ و تولید آفلاتوکسین، احتمال ایجاد آلودگی در مراحل مختلف تولید چای وجود دارد؛ از آنجایی که چای اصلی‌ترین نوشیدنی در کشور ایران است و مردم آن را چندین بار در روز مصرف می‌کنند، آلودگی آفلاتوکسین حتی در سطوح پایین نیز می‌تواند یک مشکل جدی باشد، بنابراین باید به نحوه انبارداری و نگهداری چای توجه کافی انجام شود (۳۷).

در مطالعات انجام شده در این زمینه، Mohammadi Sani و همکاران (۲۰۱۲)، چای سیاه شهر آمل را مورد بررسی قرار دادند. همه نمونه‌های چای مورد بررسی به مقدار قابل تشخیص به آفلاتوکسین کل در محدوده ۱/۵-۱۶/۵ ng/g آلوده بودند و تفاوت معنی‌داری در محتوای آفلاتوکسین کل در نمونه‌های نشان‌های تجاری مختلف وجود نداشت (۳۱). Ismail و همکاران (۲۰۲۰)، آلودگی چای مارک‌دار و فله به آفلاتوکسین را در مولتان پاکستان مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که ۷۸/۳ درصد نمونه‌های چای، آلوده به آفلاتوکسین بودند. غلظت آفلاتوکسین کل در نمونه‌های مثبت بین ۰/۱۱ و ۱۶/۱۷ mg/kg متغیر بود، همچنین نتایج به دست آمده تفاوت معنی‌داری بین غلظت آفلاتوکسین در انواع مختلف چای مارک‌دار و فله را نشان داد (۳۸). Tosun و همکاران (۲۰۱۶)، آلودگی چای گیاهی فرآوری نشده را در ترکیه مورد تجزیه و تحلیل قرار دادند. آفلاتوکسین در ۹۰ درصد نمونه‌های چای در سطوح متفاوت از ۰ تا ۳۴/۱۸ g/kg تشخیص داده شد (۳۹). Zhao و همکاران (۲۰۲۲)، آفلاتوکسین B<sub>1</sub> و استریگماتوسیستین را در سه نوع چای سیاه، چای سبز و چای اولانگ چین مورد بررسی قرار دادند. AFB<sub>1</sub> در هیچ‌کدام از نمونه‌ها شناسایی نشد، اما استریگماتوسیستین در ۱۷ نمونه با غلظت‌های ۰/۱۳ تا ۴/۴۸ µg/kg تعیین شد (۴۰). Elshafie و همکاران (۱۹۹۹)، چهار نشان تجاری معروف

### ملاحظات اخلاقی

کلیه نویسندگان نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده‌ها و داده‌سازی را در این مقاله رعایت کرده‌اند.

### تشکر و قدردانی

این مقاله، حاصل بخشی از پایان‌نامه با عنوان "بررسی وضعیت آفلاتوکسین در چای سیاه خارجی" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۴۰۲ است که با حمایت دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شده است. با تشکر از حمایت مالی بنیاد ملی علم ایران (پروژه شماره ۴۰۰۴۳۴۷) در انجام این مطالعه، بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و دانشگاه محقق اردبیلی به خاطر فراهم ساختن امکانات و حمایت مالی لازم قدردانی می‌کنند.

شود. در ایران، به دلیل نبود روش‌های استاندارد و ناکارآمدی روش‌های ذکر شده در مطالعات، برای سنجش آفلاتوکسین‌ها در چای، سازمان ملی استاندارد تصمیم گرفت که استانداردهای حد مجاز این سموم را تعدیل کند (۴۳). این تصمیم در راستای حمایت از تولیدکنندگان داخلی گرفته شد. از طرفی، تعدیل حد مجاز آفلاتوکسین‌ها ممکن است به معنی کاهش توجه به ایمنی و سلامت قلمداد شود و بنابراین این موضوع باید با دقت و مسئولیت‌پذیری علمی دنبال شود. موضوع سلامت چای مستلزم توجه به کیفیت فرآوری، نگهداری مناسب و جلوگیری از رشد قارچ‌های تولیدکننده آفلاتوکسین در مراحل تولید است. همچنین، نیازمند مطالعات بیشتر برای توسعه روش‌های مؤثر و اقتصادی برای از بین بردن یا کاهش آفلاتوکسین‌ها در چای است تا هم سلامت مصرف‌کنندگان تأمین شود و هم بتوان محصولی رقابت‌پذیر در بازارهای جهانی ارائه داد.

## References

- Mondal TK, Bhattacharya A, Laxmikumaran M, Singh Ahuja P. Recent advances of tea (*Camellia sinensis*) biotechnology. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2004;76:195-254.
- Akhgar SM. A review of the history, botany and production of different types of tea in Iran. *Journal of Plant and Biotechnology*. 2020;15(1):43-55 (in Persian).
- Yang YC, Lu FH, Wu JS, Wu CH, Chang CJ. The protective effect of habitual tea consumption on hypertension. *Archives of Internal Medicine*. 2004;164(14):1534-40.
- Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*. 2003;16:497-516.
- Kamkar A. A study on the occurrence of aflatoxin M1 in Iranian Feta cheese. *Food Control*. 2006;17(10):768-75.
- Mehdizadeh M, Mohammad Alipour M. Bacterial and Fungal Contamination of foods. Isfahan: Arkan Publication; 1998. p.35-36.
- Waliyar F, Ravinder Reddy C, Alur A, Reddy S, Reddy B, Reddy A, et al. Management of grain mold and mycotoxins in sorghum. Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics; 2008. Report No.: Patancheru 502324.
- Najafian M. Comparison the level of Aflatoxin in different varieties of internal and imported rice in different collection seasons and effect of cooking methods on the level of toxins. *Journal of Microbial World*. 2014;6(4):328-36 (in Persian).
- Torres Pacheco I. Aflatoxins - Detection, Measurement and Control. London: IntechOpen; 2011.
- Karami Osboo R, Maham M. Pre-concentration and extraction of aflatoxins from rice using air-assisted dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Analytical Methods*. 2018;11(10):2816-21.
- Karami Osboo R, Mirabolfathy M, Kamran R, Shetab Boushehri M, Sarkari S. Aflatoxin B1 in maize harvested over 3 years in Iran. *Food Control*. 2012;23(1):271-74.
- Pouretedal Z, Mazaheri M. Aflatoxins in black tea in Iran. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 2013;6(2):127-29.
- Jafari M, Rezaei M, Kalantari H, Tabarzad M, Daraei B. Optimization of aflatoxin B1 aptasensing. *Journal of Toxicology*. 2017;2017(1):2461354.
- Ghali R, Belouaer I, Hdiri S, Ghorbel H, Maaroufi K, Hedilli A. Simultaneous HPLC determination of aflatoxins B1, B2, G1 and G2 in Tunisian sorghum and pistachios. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2009;22(7-8):751-55.
- Ghali R, Khelifa KH, Ghorbel H, Maaroufi K, Hedilli A. Aflatoxin determination in commonly consumed foods in Tunisia. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2010;90(14):2347-51.

16. Riazipour M, Imani Fooladi AA, Bagherpour G. Survey of T-2 toxin present in cereals destined for human consumption. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2012;5(3):497-501.
17. Makun H, Anjorin S, Moronfoye B, Adejo F, Afolabi O, Fagbayibo G, et al. Fungal and aliatoxin contamination of some human food commodities in Nigeria. *African Journal of Food Science*. 2010;4(4):127-35.
18. Park HK, Shukla S, Lee JS, Kim JK, Kim M. Reduction of foodborne pathogens and aflatoxins in Doenjang samples using defined Meju. *Journal of Food Safety*. 2014;34(2):161-67.
19. Wongtavatchai J, McLean L, Ramos F, Arnold D. WHO food additives series 53: chloramphenicol. Hamilton: Canadian Centre for Occupational Health and Safety (CCOHS); 2004 [cited 2025 March 1]. Available from: <https://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v53je03.htm>
20. Davis ND, Diener U, Eldridge D. Production of aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a semisynthetic medium. *Applied Microbiology*. 1966;14(3):378-80.
21. Jiang Y, Jolly PE, Ellis WO, Wang J, Phillips TD, Williams JH. Aflatoxin B1 albumin adduct levels and cellular immune status in Ghanaians. *International Immunology*. 2005;17(6):807-14.
22. Turner NW, Subrahmanyam S, Piletsky SA. Analytical methods for determination of mycotoxins: a review. *Analytica Chimica Acta*. 2009;632(2):168-80.
23. Yost RW, Ettore LS, Conlon RD. Practical liquid chromatography: an introduction. Massachusetts: Perkin Elmer; 1980.
24. Ranjbar R. A review of different methods used for detection of toxins. *Journal of Military Medicine*. 2008;10(1):1-10 (in Persian).
25. Sedova I, Kiseleva M, Tutelyan V. Mycotoxins in tea: Occurrence, methods of determination and risk evaluation. *Toxins*. 2018;10(11):444.
26. Zhou H, Yan Z, Wu A, Liu N. Mycotoxins in tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze): contamination and dietary exposure profiling in the chinese population. *Toxins*. 2022;14(7):452.
27. Zhao Y, Zeng R, Wang Q, Chen P, Liu X, Wang X. Aflatoxin B1 and sterigmatocystin: Method development and occurrence in tea. *Food Additives & Contaminants: Part B*. 2022;15(1):31-37.
28. Takım K, Aydemir ME. Aflatoxin analysis by LC-MS of local and imported black tea sold in Turkey. *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*. 2021;5(4):640-44.
29. Mukherjee A, Sharma M, Latkar S, Maurya P. A study on aflatoxin content in black tea available in domestic market in India. *Journal of Chemistry and Chemical Sciences*. 2018;8(3):562-68.
30. Pakshir K, Mirshekari Z, Nouraei H, Zare Shahrabadi Z, Zomorodian K, Khodadadi H, et

- al. Mycotoxins detection and fungal contamination in black and green tea by HPLC-based method. *Journal of Toxicology*. 2020;2020(1):2456210.
31. Mohamadi Sani A, Gholampoor Azizi E, Naejjic Z. Aflatoxins level in tea samples in Amol (north of Iran). *Nutrition & Food Science*. 2012;42(6):422-27.
32. Karami Osboo R, Maham M, Nasrollahzadeh M. Rapid and sensitive extraction of aflatoxins by Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/zeolite nanocomposite adsorbent in rice samples. *Microchemical Journal*. 2020;158:105206.
33. Karami Osboo R, Maham M, Nasrollahzadeh M. Synthesised magnetic nano-zeolite as a mycotoxins binder to reduce the toxicity of aflatoxins, zearalenone, ochratoxin A, and deoxynivalenol in barley. *IET Nanobiotechnology*. 2020;14(7):623-27.
34. Yan H, Liu B, Du J, Yang G, Row KH. Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of six pyrethroids in river water. *Journal of Chromatography A*. 2010;1217(32):5152-57.
35. Haas D, Pfeifer B, Reiterich C, Partenheimer R, Reck B, Buzina W. Identification and quantification of fungi and mycotoxins from Pu-erh tea. *International Journal of Food Microbiology*. 2013;166(2):316-22.
36. Hasninia D, Salimi G, Bahrami G, Sharafi K, Omer AK, Rezaie M, et al. Human health risk assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw and pasteurized milk from the Kermanshah province, Iran. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2022;110:104568.
37. Cary JW, Ehrlich KC. Aflatoxigenicity in *Aspergillus*: molecular genetics, phylogenetic relationships and evolutionary implications. *Mycopathologia*. 2006;162:167-77.
38. Ismail A, Akhtar S, Riaz M, Gong YY, Routledge MN, Naeem I. Prevalence and exposure assessment of aflatoxins through black tea consumption in the Multan City of Pakistan and the impact of tea making process on aflatoxins. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:446.
39. Tosun H, Ergonul PG, Ucok EF. Occurrence of aflatoxins (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) in herbal tea consumed in Turkey. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*. 2016;11:265-69.
40. Zhao W, Yang R, Wang M. Cold storage temperature following pulsed electric fields treatment to inactivate sublethally injured microorganisms and extend the shelf life of green tea infusions. *International Journal of Food Microbiology*. 2009;129(2):204-8.
41. Elshafie AE, Al Lawatia T, Al Bahry S. Fungi associated with black tea and tea quality in the Sultanate of Oman. *Mycopathologia*. 1999;145(2):89-93.
42. Peromingo B, Andrade MJ, Delgado J, Sanchez-Montero L, Nunez F. Biocontrol of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* by native *Debaryomyces hansenii* in dry-cured meat products. *Food Microbiology*. 2019;82:269-76.

43. Karami Osboo R, Faramarz L. Rapid aflatoxin detection in black tea using Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticle. Food Analytical Methods. 2024;17(8):1189-94.



Available online: <https://ijhe.tums.ac.ir>

Original Article



## Investigation of aflatoxin status in foreign black tea in Tehran, Iran

Leila Faramarz<sup>1</sup>, Mahdi Davari<sup>1,\*</sup>, Rouhollah Karami Osboo<sup>2</sup>

1- Department of Plant Protection, University of Mohagheh Ardabili, Ardabil, Iran

2- Mycotoxins Research Laboratory, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

### ARTICLE INFORMATION:

**Received:** 20 January 2025  
**Revised:** 12 April 2025  
**Accepted:** 16 April 2025  
**Published:** 16 September 2025

**Keywords:** Mycotoxin,  
Aflatoxin, Black tea, HPLC

**\*Corresponding Author:**  
mdavari@uma.ac.ir

### ABSTRACT

**Background and Objective:** Aflatoxins are among the most important and hazardous fungal secondary metabolites, commonly produced in food and animal feed by certain *Aspergillus* species. Tea is one of the most widely consumed non-alcoholic beverages worldwide and is regarded as a healthy drink, with approximately two-thirds of the global population consuming it daily, particularly in the morning. This study aimed to monitor the presence of aflatoxins in black tea samples collected from Tehran, and to assess the safety of this commonly consumed beverage in the country.

**Materials and Methods:** In this study, 31 tea samples from different brands were collected in Tehran in May 2023 and analyzed for aflatoxin contamination using a nanoextraction method, followed by high-performance liquid chromatography (HPLC) equipped with a fluorescence detector.

**Results:** The limit of detection (LOD) values for aflatoxins G1, G2, B1, and B2 were 0.06, 0.35, 0.06, and 0.35 ng/g, respectively, and the limit of quantification (LOQ) values were 0.2, 1, 0.2, and 1 ng/g, respectively. The LOQ values of the present method are comparable to those reported in recent studies conducted in Spain, Austria, and Iran, which reported LOQs higher than 1 ng/g. According to the results obtained, none of the black tea samples from different brands available in the Tehran market contained detectable levels of the four types of aflatoxins (B1, B2, G1, and G2), even below the globally permissible limits (AFs  $\geq 10$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

**Conclusion:** Despite the absence of aflatoxin contamination in tea samples consumed in Tehran, previous studies worldwide suggest that tea can be contaminated with fungi and may support mycotoxin production under favorable temperature and humidity conditions. Therefore, ensuring tea safety requires attention to proper processing, adequate storage conditions, and the prevention of aflatoxin-producing fungal growth during production stages.

Please cite this article as: Faramarz L, Davari M, Karami Osboo R. Investigation of aflatoxin status in foreign black tea in Tehran, Iran. Iranian Journal of Health and Environment. 2025;18(2):283-96.

